Aus der Lory-Abteilung des Inselspitals in Bern
Chefarzt: Dr. F. L. Dumont, Priv. Doz. für Chirurgie

Zur bakteriologischen Diagnose der Knochen- u. Gelenktuberkulose

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

Joseph Zeigermann
aus Philadelphia, Pa., U.S.A.

Buchdruckerei Friedli-Küng, Aarbergergasse 42, Bern
1939

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. med. F. de Quervain von der medizinischen Fakultät der Universität Bern zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 9. November 1938.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. J. Klaesi

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner liebeu Frau gewidmet

Es ist mir von Herrn Dr. F. L. Dumont, Chefarzt der Lory-Abteilung des Inselspitals in Bern die Aufgabe gestellt worden, an Hand des klinischen Materials seiner Abteilung an Knochen- und Gelenktuberkulosen der Frage nachzugehen, auf welche Weise der **bakteriologische Nachweis** einer Tuberkulose am besten erbracht werden könnte: ob durch Färbemethoden, durch Kulturverfahren oder durch den Tierversuch. Es soll nachgeprüft werden, welche dieser Methoden am leistungsfähigsten ist.

I. Allgemeines über die Knochen- und Gelenktuberkulose

Die Tuberkulose ist eine Allgemeinerkrankung. Das Auftreten von Herden im Knochen und im Gelenk ist fast immer nur eine der Ausdrucksformen und eine der Lokalisationen der in den menschlichen Organismus eingedrungenen Erreger. Seitdem Ranke seine grundlegenden Arbeiten zur Tuberkulose veröffentlicht hat, ist auch die Genese der Knochen- und Gelenktuberkulose weitgehend klargestellt worden. Es handelt sich bei den im Skelettsystem auftretenden Herden fast durchwegs um Metastasen, die einen übergeordneten Herd voraussetzen.

Gegenwärtig ist man allgemein der Ansicht, dass die Skeletterkrankung durch hämatogene Streuung vom Primärkomplex aus zustande kommt. Der primäre Lungenherd ist allerdings oft schon klinisch ausgeheilt, ehe die Knochen nachweisbare Veränderungen zeigen und kommt seltener als Ausgangspunkt für die Knochenmetastase in Betracht. In den meisten Fällen erfolgt der Einbruch in die Blutbahn und die Metastasierung von den tuberkulös erkrankten regionären Hilusdrüsen aus. Der hämatogene Entstehungsweg ist der weitaus häufigste. Dabei kommt es entweder zum direkten Einbruch vom tuberkulösen Gewebe in die Blutgefässe oder aber über den Umweg des Ductus thoracicus, lymphohömatogen, zur Ausbreitung.

Nur in seltenen Fällen kommt der direkte lymphogene Weg in Betracht. Wenn eine käsige Drüse oder ein Teil eines Lungenherdes in die Blutbahn einbricht, gelangt das tuberkulöse Material durch die Lungenvenen in das linke Herz; von dort kommen die Bazillen mit dem Blutstrom in die Peripherie und werden dort abgelagert. (Wieland)

Die Tuberkulose des Skelettsystems stellt nach der Lymphdrüsentuberkulose die häufigste Manifestation im Kindesalter dar. Es ist auffällig, wieviel häufiger Kinder erkranken als Erwachsene, bei denen doch ausgedehnte intrapulmonale Erkrankungen überwiegen. Die Erklärung für dieses Verhalten ist in dem Gefässreichtum des kindlichen Skeletts zu suchen: die besseren Durchblutungsverhältnisse im Kindesalter schaffen anscheinend für den Tuberkelbazillus besonders günstige Ansiedlungsbedingungen.

Wenn auch Metastasen an allen Stellen des Skeletts vorkommen können, gibt es doch Lieblingslokalisationen. Es sind dies die reich durchbluteten Spongiosaabschnitte, welche die meisten und feinsten Gefässe aufweisen. Daher finden wir die Tuberkulose oft an Meta- und Epiphysen der langen Röhrenknochen, besonders häufig aber in der Spongiosa der Wirbelkörper, der Hand- und Fusswurzelknochen, seltener in den Rippen. Von den Epiphysenherden aus kommt es öfters zur Infektion des benachbarten Gelenks. Dieser sich osseal entwickelnden Form steht eine andere gegenüber, bei der die Gelenktuberkulose von einer infizierten Synovialmembran ausgeht. Man unterscheidet demnach eine primär osseale und eine primär synoviale Form. Nicht selten sehen wir eine Skelettuberkulose im Anschluss an eine Infektionskrankheit auftreten, insbesondere nach Masern, Grippe und Keuchhusten. Auch das direkte Uebergreifen einer viszeralen Organtuberkulose auf den Knochen (z. B. Rippe) wird beobachtet.

Es herrscht allgemein die Anschauung, dass Knochen- und Gelenktuberkulose nie mit schwerer, bösartiger Lungentuberkulose kombiniert ist. Er-

hebungen über die Häufigkeit der Erkrankungen zeigen, dass Kinder aus schlechten sozialen Verhältnissen als besonders exponiert anzusehen sind. Recht häufig kommt es zur gleichzeitigen Entstehung von mehreren Herden in verschiedenen Knochen. Nach der Statistik von Wiese fanden sich multiple Herde bei Kindern bis zum 5. Lebensjahr in 26 %, bis zum 10. Jahr in 50 % und zwischen 11. und 15. Jahr sogar in 80,7 % der Fälle.

1865 wurde zum ersten Mal die Frage aufgeworfen, ob Perlsucht der Rinder und Tuberkulose der Menschen identisch seien.

Villemin war für die Identität, Virchow betonte die Unterschiede. Auch Koch hielt die Krankheit zunächst für identisch. Erst als man begann mit Reinkulturen von Tuberkelbazillen Tierversuche anzustellen, traten die Unterschiede deutlich hervor. 1898 trennte Theobald Smith eine humane von einer bovinen Varietät, letztere gekennzeichnet durch Pathogenität für Kaninchen, Meerschweinchen und Rinder. Koch wies schliesslich 1901 nach, dass der vom Menschen stammende Tuberkelbazillus das Rind nicht tuberkulös infizieren kann, andererseits aber Rinder bei Einverleibung von Bazillen, die von perlsüchtigen Tieren stammen, immer erkrankten.

Während der Perlsuchtbazillus für die Lungentuberkulose bedeutungslos zu sein scheint, wird bisweilen bei Kindern eine Knochentuberkulose beobachtet, die durch den Typus bovinus hervorgerufen wird. Die genaue Ueberprüfung der ätiologischen Bedeutung des Typus bovinus wurde bisher von den verschiedensten Autoren in 163 Fällen angestellt. In 2,45 % konnte einwandfrei der Perlsuchtbazillus als Erreger nachgewiesen werden. Bei diesen Fällen findet man klinisch häufig Milztumor, remittierendes Fieber, aber relativ gutes Allgemeinbefinden. Der Sitz der Herde ist ausser im Knochenmark oft in der Haut, in Drüsen und Urogenitalsystem. Im Gegensatz dazu fand Fraser bei 70 Fällen 41 mal, also in 61,2 % Typus bovinus und nur 26 mal Typus humanus, während in 3 Fällen Mischinfektion angenommen wurde. Er sucht diese Häufigkeit damit zu erklären, dass es sich bis auf 3 Patienten ausschliesslich um Kinder unter 12 Jahren handelte, die vorwiegend von Kuhmilch ernährt wurden.

II. Die verschiedenen Methoden der Diagnosestellung

Die Diagnose der Knochen-Gelenktuberkulose ist besonders in den Anfangsstadien der Krankheit sehr schwierig. Die zahlreichen eingeführten Reaktionen auf Tuberkulose sind ein Zeichen dafür, wie gross das Bedürfnis nach einer exakten Diagnose ist. Denn es kommt ausserordentlich häufig zur fälschlichen Einreihung von chronischen Entzündungen verschiedener Art zur Tuberkulose. So berichtet z. B. Sorrel über 9512 Fälle die in den Jahren 1920 bis 1930 zur Beobachtung kamen und von denen bei einem Drittel eine falsche Diagnose gestellt worden war.

Von grosser Bedeutung ist besonders die Frühdiagnose, da eine rechtzeitige Therapie die Ausbreitung der Krankheit hintanhalten kann. Die Frühdiagnose ist sowohl sozial, als auch prognostisch von Wichtigkeit. Die Diagnose ist aufgebaut auf Anamnese, allgemeine und örtliche Symptome, Röntgenbild, klinische Beobachtung. Vor allem aber wird man den Bazillennachweis anstreben, der an Eitern oder Punktaten vorgenommen wird. Im

weitern sind Blutsenkungsgeschwindigkeit und Blutbild von Bedeutung. In allen diagnostisch zweifelhaften Fällen ist möglichst bald eine stationäre Beobachtung an sachkundiger Stelle zu fordern.

1. Röntgenuntersuchung

Das Röntgenbild kann im Beginne der Erkrankung vollkommen negativ sein, darf daher niemals zur Ablehnung eines klinisch geäusserten Tuberkuloseverdachtes führen. Später findet man als ein relativ frühzeitiges und häufiges Zeichen eine Knochenatrophie. Dann sieht man Verschleierungen, Form- und Stellungsanomalien und Aenderung des normalen Weichteilschattens. Oft aber wird erst durch Vergleich mit der gesunden Seite eine Veränderung am Knochen wahrnehmbar. Wegen der Beobachtung eines Fortschreitens der Krankheit, bzw. von Heilungsvorgängen, ist es angezeigt, Aufnahmen in regelmässigen Zeitabständen zu machen.

2. Tuberkulinproben

Es sei hier kurz auf die Tuberkulindiagnostica eingegangen, die ein sehr intressantes und umstrittenes Kapitel der Tuberkulosediagnostik darstellen. Es gibt verschiedene Methoden der Tuberkulinreaktionen. Die einfachsten sind diejenigen von Pirquet (Kutanprobe), von Moro (Perkutanprobe) und Mantoux (Intrakutanprobe). Ihr Hauptwert liegt eigentlich nur im negativen Ausfall. Schliesslich kommt die subkutane Probe nach Koch in Betracht, die mit einer möglichst kleinen Anfangsdosis angestellt werden soll. Seitdem viele Berichte über die Impfung nach Koch vorliegen, ohne dass nachteilige Folgen beobachtet wurden, nahm die Häufigkeit der Anwendung dieser ehemals verlassenen Methode wieder zu. Als Endgabe muss eine Dosis gefunden werden, die so hoch ist, dass alle praktisch in Frage kommenden tuberkulösen Erkrankungen auf sie reagieren, der Körper aber dabei nicht geschädigt werden darf. Die Reaktion zerfällt in eine Allgemein- und in eine Herdreaktion. Bei der Allgemeinreaktion kommt es zu Kopfschmerzen, Unbehagen, Gliederschmerzen, Mattigkeit und 0,5—2,0 Grad Temperatursteigerung. Das sicherste Zeichen der Herdreaktion ist die vermehrte Schwellung und die gesteigerte Funktionsstörung.

3. Blutstatus

Die verschiedenen Blutuntersuchungen kommen bei der Tuberkulosediagnostik nur als Ergänzungsmethoden in Frage, da sie unspezifischen Charakter haben.

a) Die Agglutination und die Präzipitation wird noch nicht einheitlich aufgefasst und bedarf der Nachprüfung. Sie ist vielleicht als Ergänzung brauchbar.

b) Die Komplementbildungsreaktion ist nur bedingt verwertbar, da sie nicht spezifisch ist. Weder die Wassermann'sche Reaktion noch die Besredkareaktion können für die Diagnose oder Prognose etwas leisten.

c) Die Eigenstoffreaktionen, die Wildbolz'schen Eigenharnreaktion und die Kümmel'sche Gruppenreaktion der Erythrozyten haben sich als unbrauchbar erwiesen.

d) Auch die Labilitätsreaktion ist nicht spezifisch und hat bei Nachprüfungen nicht alle aktiven Fälle erfasst. Sie ist daher zur Diagnose nicht verwertbar.

e) Die Blutsenkungsgeschwindigkeit ist unspezifisch. Bei kurz dauernden Fällen wird eine geringe Beschleunigung, aber auch manchmal normales Verhalten gefunden, während bei der chronischen Tuberkulose auch bei gutartigen Formen Fehler vorkommen können. Wenn die Senkungsgeschwindigkeit für die Diagnose auch nicht von ausschlaggebender Bedeutung ist, ist sie doch als Ergänzung gut brauchbar und kann bei regelmässiger Durchführung eine Beurteilung des jeweiligen klinischen Zustandes gestatten.

f) Die Untersuchung der Formelemente gibt Auskunft über den jeweiligen Zustand der Krankheit und ist nur in diesem Sinne verwertbar. Man findet sekundäre Anämie mit Oligozythämie und Oligochromämie. In schwer toxischen Fällen sieht man Polychromasie, basophile Tüpfelung der Erythrozyten, vorkommen von Makrozyten und Mikrozyten.

Eine Linksverschiebung (8—10 % Stabkernige) wird als Ausdruck für die Schwere der Infektion gewertet. Ueber die Bedeutung der Lymphozytose, die eine besondere Rolle spielen soll, herrscht noch keine Uebereinstimmung. Deutlicher und regelmässiger ist die Beteiligung der Lymphozyten an der Bildung von Tuberkel und bei Entstehung der zelligen Elemente in den Exsudaten. Daher ist die diagnostische Auswertung der Lymphozytose in Hinblick auf den Lipoidcharakter des Tuberkelbazillus möglich (Reaktion gegenüber einem fettartigen, lipoiden Antigen).

4. Blutbildveränderungen

Ueber Blutbildveränderungen nach Tuberkulininjektion berichtet Fauconnet, welcher 15 Stunden nach erfolgter Injektion eine stossartige Schwankung des weissen Blutbildes sah.

Auch Kraske hat Veränderungen des Blutbildes nach Tuberkulininjektion beobachtet. Er verwendete das Tebeprotein Toeniessen, ein aus abgetöteten und gereinigten Tuberkelbazillen gewonnener, chemisch einheitlicher Eiweisskörper, der in echter Lösung subkutan angewendet wird. Man macht zwei Blutbilder und zwar 12 Stunden vor und 12 Stunden nach der subkutanen Injektion von 0,1 mg Tebeprotein. Man findet bei Fällen von Tuberkulose einen Lymphozytenabfall in wechseldem Ausmass, während der Abfall bei nicht tuberkulösen Patienten fehlte, umgekehrte Werte zeigte oder höchstens geringe Grade erreichte. Ausserdem muss die Stich-, Herd- und Allgemeinreaktion auseinander gehalten werden. Dumont und Stockmann überprüften diese Angaben an 181 Fällen, von denen 103 sichergestellte chirurgische Tuberkulosen waren. Sie fanden in 81,56 % der Fälle von chirurgischer Tuberkulose ein positives, in 18,44 % ein negatives Ergebnis; andererseits waren 93,59 % von nichttuberkulösen Patienten negativ, 6,41 % positiv. Bei negativem Ausfall und Tuberkuloseverdacht empfiehlt sich die Wiederholung der Reaktion. Die Herdreaktion, welche Kraske als beweisend betrachtete, muss mit grösster Vorsicht beurteilt werden, besonders wenn die Erscheinungen nur subjektiver Natur sind. Das sicherste objektive Zeichen ist neben vermehrter Schwellung die ge-

steigerte Funktionsstörung. Dumont und Stockmann fanden in 53 Fällen = 35,8 % eine sichere Herdreaktion. Bei den beobachteten 84 Fällen, welche positiv reagierten, fiel ihnen eine Gruppe von Kranken auf, die trotz einwandfreier Tuberkulose weder Stich- noch Herd- oder Allgemeinreaktion aufwiesen. Seit dem Jahre 1933 wurde daraufhin die Reaktion bei analogen Fällen wiederholt und es zeigte sich dann nicht selten später ein positives Ergebnis. Andererseits wurde in zahlreichen Fällen durch die negative Reaktion, verbunden mit dem klinischen Befund, eine Tuberkulose sicher ausgeschlossen. Diese Reaktion ist also einfach, relativ sicher und gefahrlos. Sie bildet eine wertvolle Ergänzung der diagnostischen Methoden. Unter den subkutanen Tuberkulinproben bildet jedenfalls die Tebeproteinreaktion mit Blutbildkontrolle die sicherste Reaktion.

5. Die bakteriologische Untersuchung

Das sicherste diagnostische Hilfsmittel in der chirurgischen Tuberkulose ist die bakteriologische Untersuchung von Gelenk- und Abszesspunktaten, von Fisteleiter und von Gewebsstücken. Der direkte Nachweis des Tuberkelbazillus kann dabei durch Färbung im Ausstrich oder Färbung des ausgeschnittenen Gewebes, durch Züchtung oder durch den Tierversuch erfolgen. Die Probepunktion kommt zur Anwendung für die Gewinnung von Untersuchungsmaterial aus Abszessen, Gelenk- und Körperhöhlen. Wie bei der Behandlung von tuberkulösen Abszessen bedarf es bei der Punktion einer ganz besonderen Technik und Sorgfalt, um eine Mischinfektion zu verhüten. Dies umsomehr, als der tuberkulöse Eiter im Anfang ziemlich dickflüssig zu sein pflegt, so dass man zu seiner Entleerung durch Punktion eine dickere Kanüle verwenden muss. Später ist er dünnflüssig und enthält die charakteristischen festen Bestandteile (Fibrinflocken und Gewebebröckel). Der Inhalt eines tuberkulösen Gelenkes ist dagegen im Anfang serös, um erst später eitrig zu werden. Bakteriologisch ist der Eiter, solange keine Mischinfektion besteht, steril, was aber keinen Beweis gegen das Vorhandensein von Tuberkelbazillen darstellt. Die Farbe des Eiters tuberkulöser Abszesse kann alle Uebergänge von hellgelb bis dunkelgelb und dunkelrotbraun zeigen, der Geruch ist wenig intensiv.

Untersuchungen von Spiegel und anderen haben gezeigt, dass aus der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung von Eiter und Gelenkflüssigkeit kein Schluss auf die Spezifität des Prozesses gezogen werden kann. Es wird insbesondere der Wert der Millonschen Probe, wonach tuberkulöser „kalter" Eiter von „heissem" Eiter der pyogenen Infektion unterschieden werden könnte, in Abrede gestellt. Immerhin muss gesagt werden, dass im allgemeinen in tuberkulösem Eiter und Gelenkpunktat vorwiegend Lymphozyten, Fibrin und Detritus gefunden werden, dagegen nur wenige Leukozyten. Reiner Leukozyteneiter spricht im allgemeinen gegen Tuberkulose, beziehungsweise für Mischinfektion. Eiter, in dem die gewöhnlichen Eitererreger fehlen, spricht für einen tuberkulösen Ursprung ohne ihn zu beweisen, denn auch in dem bei andern Infektionen vorkommenden Eiter lassen sich nicht immer die entsprechenden Erreger nachweisen.

Lasch untersuchte die Wasserstoffjonenkonzentration der Exsudate mittels der Indikatorenmethode nach Michaelis und fand bei akuten

Ergüssen eine Verschiebung des Neutralpunktes zur sauren Seite, bei chronischen zur alkalischen.

Die Probeexcision mit nachfolgender histologischer und bakteriologischer Untersuchung in Fällen von tuberkuloseverdächtiger Wunden kann unter Umständen beweisend sein. Häufig ist das histologische Bild eindeutig. Nicht selten finden sich aber im herausgeschnittenen Stückchen weder makroskopisch noch mikroskopisch sichtbare spezifische Veränderungen. Jedenfalls hat eine Probeexcision nur dann ihre Berechtigung, wenn nach dem Vorschlage Oehleckers ein Teil des excidierten Gewebes auf das Meerschweinchen verimpft wird.

Der Probeexcision beim geschlossenen tuberkulösen Herd stehen aber gewichtige Bedenken gegenüber. Amerikanische Autoren (Hibbs und Smith) haben der prinzipiellen Anwendung der Probeexcision das Wort geredet, sogar in Fällen von geschlossenen Coxitiden und Spondylitiden. Ihre Vorschläge gehen entschieden zu weit und haben auf dem europäischen Kontinent keinen Widerhall gefunden.

Immerhin gibt es gelegentlich Fälle, wo eine Probeexcision erwogen werden darf, z. B. Fälle, bei denen es sich mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht um eine Tuberkulose handelt. Eine Probeexcision bei einem nichttuberkulösen Gelenk ist bei richtiger Asepsis sicher ungefährlich. Handelt es sich um eine Tuberkulose, so kann die Gefährdung durch richtige Technik, Excision mit dem Diathermiebrenner oder dem Thermokauter, auf ein Minimum herabgesetzt werden. Garre, Ruppaner, Enderlen befürworten eine vorsichtige, ausgewählte Probeexcision. Andere erfahrene Chirurgen, wie de Quervain, Bier, Roux, sind prinzipiell dagegen, weil nach ihrer Ansicht der unsichere Erfolg in keinem Einklang steht zu der eventuellen Gefährdung des Patienten.

Man wird deshalb auf andere, ungefährlichere Art versuchen müssen, den diagnostischen Schwierigkeiten beizukommen.

a) Der mikroskopische Nachweis des Tuberkelbazillus im gefärbten Präparat

Die Färbung des Bazillus erfolgt am besten im Ausstrich nach der Methode von Ziehl-Neelsen. Doch sei gleich vorweggenommen, dass es in vielen, sicher feststehenden Fällen von Tuberkulose nicht gelingt, im Präparat Bazillen zu finden. Im Gegensatz zu den meisten Autoren konnten Gardner in 90 %, Larrouyet in 95 % der Fälle im Ausstrich tuberkulöser Exsudate Bazillen nachweisen.

Der Nachweis aus dem Sputum ist auch ohne Anreicherungsverfahren viel erfolgreicher als aus dem Eiter. Noch schwieriger ist es in Gelenkergüssen Bazillen zu finden. Am meisten Versager kommen bei Mischinfektionen vor. Im Ganzen sind bei den Färbungen nur in 8—9 % der Fälle positive Resultate zu erwarten. (Pitzen)

Man geht am besten folgendermassen vor: Man verreibt das zu untersuchende Material mit einer Nadel auf dem Objektträger in möglichst gleichmässiger, dünner Schicht, lässt an der Luft trocknen und zieht den Objektträger mit der bestrichenen Seite nach oben dreimal durch die Flamme. Dann tropft man mittels eines Tropfenzählers auf die Substanzseite 3—4 Tropfen der Ziehl-Neelsenlösung (Fuchsin 1,0, Alcohol. abs. 10,0, Acid. carbol.

5,0, Aqua dest. ad 100,0) und erhitzt über der Flamme bis die Farbflüssigkeit zu kochen beginnt. Nach dem Abkühlen spühlt man die rote Farbe mit Wasser ab, tropft behufs Entfärbung einige Tropfen Ebner'scher Flüssigkeit (Acid. hydrochl., Natr. chlorat. aa 2,50, Aqua dest. 100,0, Alcohol 500,0) auf, die mit Wasser weggespühlt werden sobald die Entfärbung vollendet ist. Zeigt sich das Präparat noch rot, dann wiederholt man diesen Vorgang. Zur Kontrastfärbung tropft man einige Tropfen einer wässerig-alkoholischen Methylenblaulösung auf, die man nach einigen Sekunden mit Wasser wegspühlt. Nun wird der Objektträger mittelst Fliesspapier getrocknet, das Präparat mit einigen Tropfen Immersionsöl bedeckt, ohne Deckglas unter das Mikroskop gebracht und mit Immersion, Abbé'schen Kondensor und offener Blende untersucht. Die Tuberkelbazillen erscheinen rot auf blauem Grund. Manche Autoren empfehlen nicht mit Methylenblau nachzufärben, weil dadurch oft alle säurefesten Stäbchen verdeckt werden. Sie nehmen zur Nachfärbung halbgesättigte, wässerige Lösung von Pikrinsäure oder Chrysoidin. Der intrazellulären Lagerung von Tuberkelbazillen scheint nach den bisherigen Untersuchungen keine besondere Bedeutung zuzukommen. Much'sche Granula wurden von Manas in 14 Fällen auch isoliert gefunden. Nach Peter sind diese Fälle, die nur Much'sche Granula aufweisen, prognostisch günstiger zu werten; es soll sich hier um langsam verlaufende gutartige Fälle handeln.

In frischen Fisteln dominieren Kokken und Pyozyanus, in alten Fisteln Bakterien und Sporen. Bei regenerativen Kariesfällen wird die Knochenverdichtung durch die Anwesenheit von Staphylokokken gefördert.

Lässt der einfache Ausstrich im Stich, so kann man die Färbung nach vorheriger Anreicherung wiederholen. Als Anreicherungsmittel wird am häufigsten das Antiformin verwendet. Es wurde 1908 von Uhlenhut und seinen Mitarbeitern in die Bakteriologie eingeführt. Man nimmt einen Teil der Substanz und zwei Teile Antiformin (5,6 % Natr. hypochloros. und 7,5 % Natronlauge), schüttelt diese Mischung wiederholt bis zur Auflösung, was in ca. 10—20 Minuten der Fall ist. Eventuell kann man 95 % Alkohol zusetzen, der die Lipoidschicht der Bakterien löst und sie spezifisch schwerer macht. Dann wird mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und in ein Zentrifugierröhrchen abgefüllt. Nun lässt man eine Stunde zentrifugieren und verstreicht dann den Bodensatz mittels einer Oese auf dem Objektträger. Durch das Antiformin werden alle Begleitbakterien vernichtet.

Eine andere Methode ist das Ligroinverfahren nach Lange und Nitsche, welche durch Ligroinzusatz bessere Resultate erzielen konnten.

Die direkte Färbemethode ist jedenfalls eine wertvolle Laboratoriumsmethode, die dann an Bedeutung gewinnt, wenn sie wiederholt ausgeführt wird. Da aber auch komplizierte Verfahren einen Erfolg nicht garantieren können, wird man bei unklaren Fällen zu empfindlicheren und sicheren Methoden des Nachweises greifen müssen.

b) Die Züchtung des Tuberkelbazillus

Die Züchtung des Tuberkelbazillus für klinisch diagnostische Zwecke hat bis vor kurzem noch grosse Schwierigkeiten bereitet. Seit Robert Koch ist die Kultivierung des Bazillus nach einer grossen Reihe von Ver-

fahren versucht worden. Doch haben diese alle keine praktische Bedeutung erlangt, da die Tuberkelbazillen nicht leicht angehen und durch die Mischinfektion überwuchert werden. Nach fruchtlosen Versuchen mit den gebräuchlichen Nährböden (Bouillon, Gelatine) bezeichnete Koch zunächst erstarrtes Blutserum als günstiges Nährsubstrat, auf dem frühestens nach 8–10 Tagen Kulturen aufgehen. Doch gelang es nur aus reinem tuberkulösem Gewebe solche Kulturen herzustellen. Später wurde als günstiger Zusatz Glyzerin angegeben; auf Glyzerinkartoffeln wuchsen die Bazillen sehr üppig. Schon 1886 hat Capaldi erfolgreich einen Eiernährboden versucht, von dem dann verschiedene Modifikationen angegeben wurden. Mit Hilfe dieser Untersuchungsmethoden wurden bakteriologische Fragen gelöst, die die Grundlage für die heutige Forschung gegeben haben. Die ersten Bestrebungen, dem Problem der Reinzüchtung näherzukommen, verdanken wir Hesse, Spengler und Uhlenhut, welche durch Vorbehandlung des Materials oder durch besondere Nährböden die Mischinfektion zu verhindern suchten. Doch waren diese Methoden zeitraubend, verlangten eine besondere Uebung und Erfahrung, waren nicht für jedes Material anwendbar und nicht immer zuverlässig. Das Hauptgewicht zur Verhütung der Mischinfektion lag aber nicht im Nährsubstrat, sondern in der Art der Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials.

Einige andere Autoren empfahlen die Behandlung mit Alkalien (z. B. Petrof und Petragni). Schliesslich hat Löwenstein nach einer Reihe von Resistenzprüfungen der Tuberkelbazillen unter Einwirkung von Laugen und Säuren ein Verfahren angegeben, durch das auch bei Mischinfektion eine Reinzüchtung gelang. Diese Methode wurde dann von Sumiyoshi ausgebaut. Das Prinzip des Verfahrens von Löwenstein besteht in folgendem: durch Vorbehandlung mit 10—15 %iger Schwefelsäure werden alle Begleitbakterien abgetötet. Dann wird die Schwefelsäure mit Kochsalzlösung ausgewaschen. Die Aufschwemmung wird zentrifugiert und das Sediment auf Glyzerinkartoffel überimpft. Es kommt nun zu einem ungestörten Wachstum der Tuberkelbazillen. Schattner überprüfte dieses Verfahren und machte Kontrollversuche mit Natronlauge und Schwefelsäure verschiedener Konzentrationen. Dabei fand er, dass die 15 %ige Schwefelsäure die beste Konzentration darstellt, und dass eine Dauer der Einwirkung von 15 Minuten als günstigste Zeit erschien. Felsenfeld stellte Vergleichsuntersuchungen unter Verwendung verschiedener Nährböden an. Er kultivierte dasselbe Material auf Nährböden von Petragni, Besredka, Petrof und Löwenstein. Der Löwensteinsche Nährboden erwies sich als der weitaus beste. Am Wiener pathologischen Institut wurde in 950 Fällen dieser Nährboden verwendet und hat dabei den Tierversuch vielfach verdrängt. Unter dem untersuchten Material waren 79 Kniepunktate (dabei 5 % positiv), 28 Eiterproben (46 % positiv) und 70 Gewebsproben (24 % positiv). Einen weiteren Fortschritt bedeuten die Arbeiten von Hohn, der das Löwenstein'sche Verfahren vereinfachte und auf alle tuberkulösen Produkte anwendete. Er nimmt ungewaschenes, also saures Sediment (ph 7,1—7,2), das er auf Eiernährböden überträgt. Dieser Nährboden wird folgendermassen hergestellt: Drei frische Eier werden nach Desinfektion der Oberfläche an beiden Enden geöffnet und in einen Kolben geblasen, dort mit Glasperlen einige Minuten geschüttelt und in einen Messzylinder umgegossen. Dazu

kommt 5 %ige Glyzerinbouillon und zwar ein Drittel der Eimenge. Das Ganze wird gut vermischt und in schräggestellte Kulturröhrchen abgefüllt; die P_H beträgt 7,1—7,2. Im Erstarrungsapparat wird die Substanz zum Koagulieren gebracht und zwar 2 Stunden bei 80 Grad, dann eine Viertelstunde bei 37 Grad. Ferner wird 0,5 ccm natronsaurer Bouillon ohne Glyzerin in jedes Röhrchen dazugegeben; dann erfolgt die Sterilitätsprüfung durch Belassen von 2 mal 24 Stunden im Brutschrank (Dimtza). Auf diese Kulturröhrchen wird das Material verimpft; zuerst lässt man durch 15—20 Minuten 10—12 %ige Schwefelsäure einwirken, wobei man kräftig umschüttelt. Dann zentrifugiert man durch 5 Minuten und streicht schliesslich das Sediment mittelst Oese auf drei Eierröhrchen aus. Diese Röhrchen kommen nun in den Brutschrank und zeigen nach 5—30 Tagen, in der Mehrzahl nach 11—16 Tagen deutliche Kolonien.

Hohn untersuchte 68 Eiterproben, von denen ein positives Ergebnis zeigten: in der Kultur 57 %, Kultur und mikroskopisch 38 %. Kultur negativ waren 5 %, welche gleichzeitig mikroskopisch keine einwandfreie Diagnose zuliessen. Daher besteht eine Ueberlegenheit der Kultur gegenüber dem Ausstrich von 57 %. Clairmont berichtet von 270 Fällen, bei denen Kulturen angelegt wurden. Dabei ergaben 65 positive Resultate mit einer Durchschnittsdauer von 16,3 Tagen. Der Autor schlägt für dieses beste Kulturverfahren die Benennung Löwenstein-Hohn vor. Das zu untersuchende Material wurde zentrifugiert, fein zerschnitten und, falls es sich um Gewebstücke handelte, zerrieben. Je nach dem Grade der Mischinfektion wurde jetzt 6, 10, 12 und 15 %ige Schwefelsäure zugesetzt. Wichtig ist, dass immer frische und saftige Nährböden von gleichem P_H verwendet werden, weshalb die Eiernährböden alle 2 Wochen neu hergestellt werden müssen. Ein- zweimal wöchentlich werden die bestrichenen Nährböden durchgemustert. Das Wachstum ist im Beginn makroskopisch in Form kleinster Knötchen oder Schüppchen sichtbar. Die Diagnose soll aber nur aus dem gefärbten Ausstrich gemacht werden. Am häufigsten erfolgte ein Angehen am 10., 16.—20. Tage. Später als nach 4 Wochen ist ein Wachstum des Typus humanus nicht mehr zu erwarten. Der Typus bovinus geht in der Regel erst nach der 4. Woche an. Sonnenschein fand bei 400 Untersuchungen 61 positive Resultate, davon 30 in Kultur und Ausstrich, 29 nur in Kultur und 2 nur im Ausstrich. (Zeitdauer 11—22 Tage.) Dimtza berichtet von 300 untersuchten Fällen, von denen 81 positive Resultate ergaben. Im Ausstrich waren 58 = 72 %, im Tierversuch 76 = 94 % und im Kulturverfahren sogar 80 = 98 % positiv. Dabei dauerte das Wachstum durchschnittlich 10—16 Tage, nur selten länger. Haase verwendete als Zusatz ebenfalls wechselnde Konzentrationen von Schwefelsäure und fand 79 % der untersuchten Eiterproben kulturpositiv, während vor Verwendung wechselnder Konzentrationen nur 65 % positiv gewesen waren.

Diese günstigen Resultate werden jedoch nicht durchwegs bestätigt. Am hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Bern wurden in den letzten Jahren verschiedene Untersuchungen durchgeführt, die alle zeigen, dass bei seinem heutigen Stand das Kulturverfahren nicht die zuverlässigste bakteriologische Untersuchungsmethode ist. Verwendet wurden verschiedene Nährböden, doch ergaben sich zwischen denselben keine wesentlichen Differenzen. Gleichzeitig wurden, mit dem Kulturverfahren, Tierversuche durchgeführt.

Voegeli hatte bei 125 Untersuchungen 33 positive Resultate. Davon waren 22 in der Kultur und im Tierversuch positiv, 7 nur im Tierversuch, 4 nur in der Kultur. Gfeller erhielt bei 140 Untersuchungen 31 positive Resultate. 26 mal waren Tierversuch und Kultur zusammen positiv, 4 mal nur der Tierversuch, 1 mal nur die Kultur. Aenlich sind die Zahlen von Belart: 140 Untersuchungen, 36 positive Resultate, wovon 29 durch Kultur und Tierversuch, 5 nur durch den Tierversuch, 2 nur durch die Kultur.

Die Modifikation von Hohn mit Blutzusatz, ferner der Aminoeiernährboden und die von Sonnenschein angegebene Modifikation mit Malachitgrün ergaben keine wesentlich anderen Resultate als die oben erwähnte Hohn'sche Methode.

Im positiven Ergebnis ist also das Kulturverfahren der mikroskopischen Untersuchung überlegen, dem Tierversuch dagegen unterlegen.

Von besonderer Bedeutung ist auch das Wachstum von Tuberkelbazillen in Stämmen, die wohl für den Menschen, nicht aber für das Meerschweinchen pathogen sind, z. B. Hühnertuberkulose. Der Typus gallinaceus ist charakterisiert durch leichtere Färbbarkeit, wächst auf Serum und Glyzerinagar mit üppigem weisslich-mattglänzendem Rasen, der durch seine feuchte Beschaffenheit vom Typus humanus leicht zu unterscheiden ist.

Fraser schlägt zur Typentrennung der humanen und der bovinen Varietät die Probe von Theobald Smith vor:

1. Typus humanus gibt in Glyzerinbouillon saure, Typus bovinus alkalische Reaktion.
2. Glyzerinzusatz beschleunigt das Wachstum bei Typus humanus und verzögert es bei Typus bovinus.

Verschiedene Gründe können zum Versagen des Kulturverfahrens Anlass geben. Der Nährboden kann unrichtig zubereitet oder während der Zubereitung ausgetrocknet sein. Ferner kann die Säurebehandlung die Bazillen so weit schwächen, dass sie auf dem Nährboden nicht mehr wachsen und auch im Tierversuch nicht mehr angehen. Deshalb soll die prozentuale Abstufung der Schwefelsäure verwendet werden. Auch die Art des Materials ist von Bedeutung, wie Hohn und Tschmarke nachwiesen. Am besten eignet sich Eiter, am schlechtesten seröse Exsudate. Für letztere ist daher der Tierversuch eher angezeigt.

Der Nachweis der Bazillen im strömenden Blut ist durch die Arbeiten von Löwenstein wieder in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Die neueren Erfahrungen zeigen, dass eine Bazillämie bei lokalisierten Tuberkuloseherden möglich ist. Zum Entstehen einer Miliartuberkulose scheint ausser dem Einbruch der Bazillen in die Blutbahn auch Art und Virulenz der Keime, Immunitätszustand des Individuums und Ort des Bazilleneinbruchs von Bedeutung zu sein. Zum Nachweis aus dem strömenden Blut werden direkte Ausstriche mit und ohne Vorbehandlung des Blutkuchens ausgeführt. Nach den Erfahrungen von Löwenstein ist die Züchtung aus dem Blut auf dem Petragni'schen von Löwenstein modifizierten Nährboden leicht. Nachuntersuchungen, die von den verschiedensten Autoren vorgenommen wurden, bestätigen jedoch in keiner Weise die Resultate von Löwenstein. Der Einwand Löwensteins, der Gegensatz in den

Ergebnissen sei auf mangelhafte Beherrschung der Methodik zurückzuführen, leuchtet nicht ein. Verschiedene Nachuntersucher haben die Methode bei Löwenstein selbst erlernt (Horster, Holtgrave, Saegler, Dettling) und erhielten durchwegs schlechte Resultate. Bürki (Diss. Bern 1935) erhielt bei 107 Blutproben von 91 Patienten nur in einem einzigen Falle ein positives Züchtungsergebnis.

6. Der Tierversuch

Zum Tierversuch eignet sich am besten das Meerschweinchen, welches gegen die Tuberkulose ausserordentlich empfindlich ist. Das verdächtige Material wird, wenn es flüssig ist, gewöhnlich subkutan unter die Bauchhaut oder unter die Haut an der Innenseite des Oberschenkels in die Nähe der Lymphdrüsen, ferner auch intraperitoneal injiziert. Gewebstücke werden in eine Hauttasche eingenäht. Material, welches schwere Mischinfektion zeigt, ist mit Antiformin vorzubehandeln. In den nächsten 8—14 Tagen kann man den Infektionsweg meist deutlich verfolgen. Zuerst kommt es zu einer Schwellung der Kniefaltendrüsen, dann der Leistendrüsen; schliesslich erkranken die Iliakaldrüsen, die Milz, die Portaldrüse, die Lungen, die Bronchialdrüsen und die Leber. Nach einigen Wochen geht das Tier normalerweise ein.

Es ist besser, subkutan als intraperitoneal zu impfen, denn bei intraperitonealer Impfung können dem Unerfahrenen leicht Fehler unterlaufen. So sind z. B. Pseudotuberkulose, Coccidien der Leber etc. oft fälschlicherweise als positives Impfergebnis aufgefasst worden. Wenn man aber von der Impfstelle aus ein Fortschreiten des Krankheitsprozesses beobachten kann, dann ist ein Irrtum ausgeschlossen.

Die Beobachtungszeit von 4—6 Wochen und länger versucht man auf verschiedene Weise abzukürzen. Die Drüseninzision mit bakteriologischer und histologischer Prüfung kann z. B. schon vor Ablauf dieser Zeit vorgenommen werden. (Weber) Die Prüfung der intrakutanen Tuberkulinreaktion nach Römer wurde wieder verlassen, ebenso wie die Drüsenquetschung nach Block. Am meisten praktische Bedeutung hat die von Knorr und Friedrich angegebene Methode der intraglandulären Impfung. Die Vorteile des Verfahrens bestehen in dem schnelleren Ergebnis, welches ausserdem eine sichere Diagnose ermöglicht. Clairmont hat die intrakutane und intraperitionale Impfung zugunsten der intraglandulären verlassen und erreichte damit eine Verkürzung der Wartezeit auf 10—14 Tage. Ausserdem waren hier Versager viel seltener.

Die meisten Autoren halten an der Regel fest, dass wenn beim Tierversuch nach 6—8 Wochen keine vergrösserten Lymphdrüsen sichtbar sind, dieser als negativ zu bezeichnen ist. Doch ist in ganz seltenen Fällen, wie Clairmont zeigen konnte, auch nach 3—4 monatiger Beobachtung noch eine positive Reaktion möglich. Daher soll man den Meerschweinchenversuch erst nach 6 Monaten als abgeschlossen betrachten. (Clairmont)

Es ist ratsam einige Tiere gleichzeitig zu impfen, weil ein einzelnes Tier vor Abschluss des Versuches an einer interkurrenten Erkrankung eingehen kann. An einer Mischinfektion, die von verimpftem Material herrührt gehen die Tiere nur selten zu Grunde. (Oehlecker) Wird das Unter-

suchungsmaterial nicht gleich verimpft, dann muss man es vor Eintrocknung und vor Einwirkung von Sonne und Licht schützen. Will man Kulturen von einem infizierten Meerschweinchen anlegen, so wird das Tier, dessen tuberkulöse Erkrankung an den vergrösserten Kniefaltendrüsen festzustellen ist, in der 3. Woche getötet. Die Milz wird unter streng aseptischen Kautelen entnommen, zerquetscht und auf der Oberfläche des Nährbodens verteilt.

Auch die Typenuntersuchung lässt sich, wenn auch nicht ohne Schwierigkeiten im Tierversuch durchführen. Man impft am besten ein Kaninchen unter die Bauchhaut mit einem cg einer 20—30 Tage alten Glyzerinbouillonkultur. Vom Typus humanus bekommt das Kaninchen meist nur einen Impfabzess; die Tiere bleiben aber ganz munter, zeigen keine Drüsenschwellung und nehmen sogar an Gewicht zu. Tötet man diese Tiere nach 4 Monaten, so findet man im Körper entweder gar nichts von Tuberkulose oder nur kleine periphere Herde in der Lunge, die zur narbigen Schrumpfung neigen. Ganz anders ist das Verhalten der Tiere, die mit Typus bovinus infiziert werden. Die Achseldrüsen etc. schwellen an, die Tiere nehmen an Gewicht ab und gehen nach 2—3 Monaten zugrunde. Man findet eine Verkäsung der Drüsen, eine schwere Tuberkulose der Lunge und der Bronchialdrüsen, schliesslich regelmässig Herde in der Niere. Auch die intravenöse Impfung des Kaninchens ist zur Typenunterscheidung mit Erfolg zu verwenden, wobei man 1 / 100 mg oder weniger in die Ohrvene injiziert.

Zur Beurteilung solcher Tierversuche ist es notwendig, dass man mit Anatomie und Pathologie (Coccidiose, Septikämie etc.) der Kaninchen vertraut ist. Man muss z. B. wissen, dass das Venen- und Lymphgefässsystem an der Bauchseite der Tiere verschiedene Verteilung zeigt. Während beim Meerschweinchen mehr Quellgebietseinteilung in etwa 4 gleiche Quadranten vorliegt, versorgt die Mammaria externa beim Kaninchen nicht nur Brustgegend sondern auch fast den ganzen Bauchbezirk, so dass bei Verimpfung unter die Bauchhaut stets zuerst die Achseldrüsen erkranken; beim Meerschweinchen hingegen schwellen bei gleicher Impfstelle die Kniefaltendrüsen an.

Zur Unterscheidung der Typen kommt schliesslich auch die subkutane Impfung des Rindes in Frage. Man injiziert 5 cg unter die Haut des Halses; Typus humanus ruft keine Tuberkulose hervor, bei Typus bovinus geht das Tier an generalisierter Tuberkulose ein.

Um Täuschungen durch etwa vorhandene Spontantuberkulose der Tiere zu vermeiden oder wenigstens zu vermindern, empfiehlt Römer eine intrakutane Prüfung mit 0.02 ccm Tuberkulin in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Für den Typus gallinaceus ist das Kaninchen empfänglich, doch findet man keine typischen Veränderungen, sondern nur eine Milzschwellung. Die besten Versuchstiere dafür sind Hühner und Tauben, die bei jedem Infektionsmodus — auch per os eingehen. Der Nachteil des Tierversuches liegt in seiner Dauer und in der heute nicht von der Hand zu weisenden Kostenfrage. Man muss im allgemeinen mit einer Dauer von 6—8 Wochen rechnen, doch kann erheblich mehr Zeit bis zur sicheren Erkrankung des Tieres oder bis zu dessen Eingehen an Tuberkulose vergehen.

Jedenfalls ist der Tierversuch heute für die Tuberkulosediagnostik speziell bei den Knochen- und Gelenkerkrankungen von ungeheurer Be-

deutung. Er ist bei jedem Tuberkulösen oder Tuberkuloseverdächtigen zur Notwendigkeit geworden. Die verschiedenen Statistiken ergeben ausgezeichnete Resultate, sodass man in allen zweifelhaften Fällen zum Meerschweinchenversuch greift. Derart gelingt es noch vielfach Fälle aufzuklären, die lange Zeit falsch diagnostiziert und falsch behandelt worden waren.

Den besten diagnostischen Erfolg bietet nach allgemeinen Erfahrungen die Kombination von Tierversuch und Kulturverfahren, wobei die Kultur zweckmässig auf Glyzerinkartoffel und Eiernährboden angesetzt werden sollte.

III. Eigene Versuche und Auswertung deren Resultate

Unsere Untersuchungen betreffen 318 Fälle, deren Diagnose nach den klinischen Symptomen auf Knochen- und Gelenktuberkulose lautete, und die in den Jahren 1929 bis 1937 in die Loryabteilung des Inselspitals Bern (Chefarzt Pd. Dr. F. L. Dumont) eingeliefert wurden. Es war jedoch nur in 67 dieser 318 Fälle möglich, Untersuchungsmaterial zu erhalten. Dies beweist, dass nur eine kleine Zahl von Fällen chirurgischer Tuberkulose bakteriologisch erfasst werden kann.

Das Untersuchungsmaterial wurde aus Punktaten, Senkungsabszessen, Fistelsekreten und Gewebsstücken gewonnen. Jedes Material wurde nach 3 Verfahren untersucht, nämlich mikroskopisch im Ausstrich, durch das Herstellen von Kulturen und durch den Tierversuch am Meerschweinchen. Die Untersuchungen wurden im Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Bern (bis 1936 Prof. Dr. Sobernheim, seither Prof. Dr. Hallauer) durchgeführt.

Für das Kulturverfahren wurde bis 1935 der „Z"-nährboden, von 1935 an der Aminoeiernährboden nach Hohn verwendet. Die Nährböden wurden folgendermassen hergestellt:

A. „Z"-nährboden, Herstellung der Bestandteile

I. Hämoglobinbereitung

1. Sterilisieren oder Ausglühen eines Teesiebes mit feinmaschigem Bodendrahtnetz. Einstellen eines Reagenzglases mit Aqua destillata in einen kleinen hohen Wasserbehälter, bis zum Gebrauch kochen lassen.

2. Befestigen des Siebes mit einer Dechglaspinzette an einem stativ über einem sterilen Glastrichter von 8 cm Weite, der in ein steriles Zentrifugalglas in einem Gestell mündet.

3. Mit einer starken, immer wieder ausgeglühten Nadel werden etwa 15—18 Blutkuchen abgesetzter Blutproben zur Wassermannreaktion direkt aus den eingesandten Röhrchen auf das Sieb gebracht. Das Serum bleibt zurück und wird zur Serodiagnostik verwendet. Irgendwie durch Geruch auf Chemikalien verdächtige Proben (Kampfer, Brennspiritus, Aether etc.) wurden übergangen. Man benützt zur Herausnahme der Blutkuchen 2 Nadeln, die abwechselnd ausgeglüht werden.

4. Mit derselben geglühten starken Nadel rührt man nun über den Boden des Siebes in den Koagula. Dadurch zerkleinert man die Blutkuchen

und konzentriertes Blut läuft dabei tropfenweise in das untergestellte Zentrifugenglas. Man setzt das Rühren fort bis das Zentrifugenglas mit ca. 14 ccm gefüllt ist.

5. Zentrifugieren des Blutes, 10 Minuten lang.

6. Abheben des spärlich ausgepressten Serums.

7. Uebergiessen des Blutes in ein steriles Reagenzglas. Markieren der oberen Grenze mit Fettstift. Die gleiche Raummenge darüber markieren.

8. Hinzufügen der durch Kochen sterilisierten und durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlten Aqua destil. bis zur oberen Marke, so dass Blut und Aqua destil. zu gleichen Teilen vorhanden sind.

9. 20 mal Hin- und Hergiessen der Blutwassermischung bis zur Hämolyse, unter Benützung eines zweiten Reagenzglases.

10. Umgiessen der Hämoglobinlösung in ein steriles 100 ccm Kölbchen. Abimpfen einer Oese aus der Lösung auf Nähragar zur Sterilitätsprüfung. Aufheben im Kälteschrank, 4 Tage lang reifen lassen, dann durch 8 Tage benützen.

II. Malachitgrünlösung

1. Malachitgrün extra chemisch rein (I. G. Farbenindustrie Leverkusen), wird in einem 150 ccm Kölbchen mit 100 ccm Aqua dest. übergossen und gut gemischt. Stehenlassen der Farbmischung zur weiteren Lösung durch 24 Stunden im Brutschrank. Filtrieren in eine sterile Flasche. Die 1 %ige Lösung kann bis zum Aufbruch benützt werden.

III. Natursäurebouillon

(Jeder Alkalizusatz fällt fort P_H = ca. 6,3)

1. 10 gr. Fleischextrakt (Liebig) und 5 gr. Kochsalz werden in 1 Liter Aqua dest. bei leichter Erwärmung (ca. 60 Grad) gelöst.

2. 10 gr. Pepton werden mit geringer Menge der vorstehenden Lösung im Mörser fein angerührt, dann weitere Zugabe von Bouillon unter Verreibung. Die Peptonanrührung wird zur Fleischextraktbrühe zurückgegossen. ½ Stunden in den Dampftopf, dann filtrieren und weiter 40 Minuten unter Druck bei 110 Grad sterilisieren.

3. Abfüllen der Bouillon in 100-er Kölbchen zu 45 ccm, dazu 5 ccm Glyzerin = 10 %ige Glyzerinbouillon als Zusatz zur Einmischung.

3 a) Abfüllen der Bouillon in 50-er Kölbchen zu 30—40 ccm = Kondensbouillon.

4. Nachsterilisieren dieser Kölbchen, ¼ Stunde bei 110 Grad.

IV. Einmischung

1. 3 ganz frische Eier werden an den Polen mit Alkohol abgerieben und mit sauberem Messer eingeknickt.

2. Ausblasen der Eier in ein steriles Pulverglas mit Glasstöpsel und Glasperlen von 200 ccm Inhalt.

3. Gute Mischung von Dotter und Eiweiss durch ca. 5 Minuten langes Schütteln, starke Schaumbildung ist dabei zu vermeiden.

4. Abmessen der Eimenge in einem sterilen Messzylinder. Uebergiessen in ein steriles 300-er Kölbchen.

5. Zufügen von 2 %iger gereifter Hämoglobinlösung und gut durchmischen. Die Mischung nimmt dabei eine ziegelrote Farbe an.

6. Zufügen von 5 ccm der 1 %igen Malachitgrünlösung zu dem vorrätig gehaltenen Kölbchen mit 50 ccm natursaurer 10 %iger Glyzerinbouillon. Gutes Durchmischen.

7. Zufügen dieser Malachitgrünglyzerinbouillon zur Mischung mit Hämoglobin in der Menge von ein Drittel der ursprünglichen Eimischung, z. B. primäre Eimenge 150 ccm, dann zuerst Zusatz von Hämoglobinlösung von 3 ccm. Gutes Mischen. Daraufhin Zusatz von 50 ccm der Malachitglyzerinbouillon, wieder gut mischen. Die Farbe der Mischung ist nun dunkelgrün und das Ganze enthält Malachitgrün 1:4000, (neuerdings 1:6000).

8. Abfüllen in Reagenzgläser zu 6—7 ccm. Senkrechtes Einfüllen zur Vermeidung von Beschmutzung des Reagenzglases. Einstellen der Reagenzgläser in den Eisschrank auf eine halbe Stunde. Erstarren bei 83 Grad eine halbe Stunde. Beim Herausnehmen prüfen, ob die Erstarrung vollkommen ist. Nicht erstarrte Röhrchen werden nochmals für 10—15 Minuten in den Schrank gebracht. Zufügen von ca. 0,8 ccm Kondensbouillon, Parafinieren. Datum der Herstellung aufschreiben.

B. **Aminocinährboden nach Hohn**

Stammlösung:	Aqua destill.	500,0 ccm
	Natr. phosphor. ($NaHPO_4$	1,5 g
	Kalium phosphor. (KH_2PO_4	2,0 g
	Magnes. sulf. ($MgSO_4$	0,3 g
	Magnes. citrat.	1,25 g
	Alanin	2,0 g
	Asparagin	3,0 g

Die Substanzen werden in der angegebenen Reihenfolge in 500 ccm, ca. 80 Grad heissem Aqua dest. gelöst. Zufügen der folgenden Substanz erst wenn die vorangegangene gelöst ist. Zum Schluss werden 60 ccm Glyzerin dazugegeben, die Lösung in kaltem Wasser auf genau 20 Grad abgekühlt, in Kölbchen zu 50 ccm abgefüllt und zweimal 35 Minuten im Dampftopf bei 100 Grad fraktioniert sterilisiert. Aufbewahrung im Eisschrank. Zu 50 ccm Stammlösung kommen vor Gebrauch 5 ccm einer 0,7 %igen Malachitgrünlösung.

Zu einer Nährboden-serie werden gebraucht:

165 ccm Eimischung = 4 Eier, dazu 50 ccm Stammlösung plus 5 ccm Malachitgrün 0,7 % = 55 ccm = 1/3 der Mischung. Malachitgrüngehalt = 1,6285. Die Nährböden werden 2 Stunden im Eisschrank stehen gelassen und 1 Stunde bei 83—85 Grad zum Erstarren gebracht.

Die Reihenfolge zur Herstellung der Stammlösung kann eventuell wie folgt abgeändert werden, namentlich wenn sich Niederschläge bilden: Aqua dest., Natr. phosph., Kal. phosph., Alanin, Asparagin, Magnes. sulf., Magnes.

citrat. Alle Bestandteile sind separat aufzulösen, wobei zu beachten ist, dass sich Asparagin nicht in kleinen Flüssigkeitsmengen löst.

Mikroskopischer Nachweis

Dieser erfolgte nach der Färbemethode von Ziehl-Neelsen, mit Nachfärbung des Ausstriches mit Methylenblau.

Tierversuch

Es wurden Meerschweinchen subkutan gegen die Leistendrüsen geimpft, nach 3 Wochen palpatorisch untersucht und bei positivem Befund das Tier getötet, seziert und die Drüsen auf Tuberkelbazillen untersucht.

I. Tabelle. Untersuchte Fälle

Fall	Alter	Diagnose	Mikr.	Kult.	Tierv.	Material
1	12	Spond. Tbc. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Punktat
2	32	Spond. Tbc.	—	—	+	Eiter
33x)	22	Spond. Tbc. dors. et lumb.	—	—	+	Fistelsekr.
4	23	Spond. Tbc. dors.	—	—	+	Punktat
5	11	Spond. Tbc. dors.	—	—	—	Absz. eiter
6	28	Spond. Tbc. dors. fistulosa	—	—	+	Eiter
7	35	Spond. Tbc. lumb.	—	—	+	Eiter
8	20	Spond. Tbc. lumb. fistulosa	—	—	+	Fisteleiter
9	24	Spond. Tbc. und Tbc. des Ileosakralgelenkes	—	—	—	Punktat aus Abszess
10	33	Spond. Tbc. lumb. mit Senkabsz.	—	—	+	Absz. eiter
11	29	Spond. Tbc. mit Senkungsabsz.	—	—	—	Eiter
12	22	Spond. Tbc. lumb.	—	—	+	Eit. Senk. absz.
13	32	Spond. Tbc. lumb.	—	—	+	Absz. punkt.
14x)	22	Spond. Tbc. lumb.	—	—	—	Fisteleiter
15	21	Spond. Tbc. lumb.	—	—	+	Absz. punkt.
16x)	31	Spond. Tbc. lumb. Tbc. ossis ischii mit Fisteln	—	—	—	Punktat
17	41	Spond. Tbc. lumb. fistulosa	—	—	+	Absz. punkt.
18	27	Spond. Tbc. lumb., Gonitis	—	—	—	Gelenkpunkt.
19	30	Spond. thoracis fistul.	—	+	+	Eiter
20x)	14	Spond. Tbc. lumb.	+	—	+	Eiter
21	31	Spond. lumb. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Eiter
22	36	Spond. lumb. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Eiter
23	28	Spond. lumb. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Eiter
24x)	31	Spond. lumb. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Eiter
25	31	Spond. lumb. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Punktat
26	52	Spond. dors. mit Senkungsabsz.	—	—	+	Eiter
27	52	Spond. dors.	—	—	+	Eiter aus Schädesabsz.
28	44	Spond. cerv. fistul. Tbc. des Handgelenkes	—	—	—	Punktat

Fall	Alter	Diagnose	Mikr.	Kult.	Tierv.	Material
29	49	Spond. dors.	—	—	+	Eiter
30	34	Spond. thoracis	—	—	+	Punktat
31	25	Coxitis mit Abszess	—	—	+	Absz. eiter
32	42	Coxitis sin. fistulosa	—	—	+	Fisteleiter
33	38	Coxitis dextr. fistulosa	—	+	+	Punktat
34	22	Coxitis sin. fistul.	—	+	+	Punktat aus Psoasabszess
35x)	45	Coxitis sin.	+	—	—	Fisteleiter
36	36	Coxitis dextr.	—	—	+	Punktat
37	54	Tbc. des link. Talocruralgelenks	—	—	—	Fistelsekret
38	41	Fusstbc. links	—	—	+	Punkt. eiter
39	26	Fusstbc. links	—	+	+	Punkt. eiter
40	42	Tbc. des rechten Mittelfusses	—	—	+	Fistelsekret
41	72	Tbc. pedis sin. fistul.	—	—	+	Punktat
42	30	Tbc. pedis dextra	—	+	+	Punktat
43	56	Tbc. des recht. ob. Sprunggelenks	—	—	+	Absz. punkt.
44x)	53	Tbc. des Fusses	—	+	+	Gewebsstück
45x)	34	Tbc. calcanei mit Fistel	—	—	+	Eiter
46	22	Tbc. genus sin. fistul.	—	—	+	Punktat
47	61	Tbc. genus sin. fistul.	—	—	+	Punktat
48	24	Gonitis sin.	+	—	+	Punktat
49	22	Gonitis dextra	—	—	+	Punktat
50x)	31	Gonitis dextra	—	—	—	Punktat
51	46	Gonitis	—	+	+	Punktat
52	55	Gonitis sin. fistul.	—	—	+	Punktat
53	28	Gonitis sin.	—	+	+	Punktat
54	69	Gonitis fistul.	—	—	+	Eiter
55	42	Gonitis dextra	—	—	—	Punktat
56	25	Gonitis dextra	—	+	+	Absz. punkt.
57	50	Tbc. cubiti dextra	—	—	+	Punktat
58	73	Tbc. cubiti sin.	—	—	—	Punktat
59	48	Tbc. cubiti sin. fist.	—	+	+	Punktat aus Psoasabszess
60	48	Tbc. cubiti sin.	—	+	+	Punkt. aus Cubita
61	70	Tbc. cubiti dextra	—	+	+	Absz. punkt.
62	33	Tbc. des 2. Metacarpale	—	—	+	Eiter
63	62	Tbc. cubiti dextra	—	—	+	Eiter
64	25	Tbc. des recht. Schultergelenks	+	—	+	Eiter
65	62	Tbc. tibiae sin.	—	+	+	Probeexzision
66	70	Multiple Knochentbc.	—	+	+	Eiter
67	62	Multiple Knochen- und Gelenktbc.	+	+	+	Kniegelenkpunktat

x) Die Fälle 3, 14, 16, 20, 24, 35, 44, 45, 50, kamen zum Exitus und wurden seziert. Bei allen diesen Fällen wurde autoptisch Tuberkulose nachgewiesen.

II. Tabelle. Zusammenfassung

Mikrosk. Unters.	Kulturverf.	Tierversuch	Fälle	Prozente
+	—	—	1	1,5
+	—	+	3	4,5
+	+	—	0	0
+	+	+	1	1,5
—	+	+	14	21,0
—	—	+	36	53,5
—	+	—	0	0
—	—	—	12	18
+ 5	+ 15	+ 54	67	100,0

Aus der vorstehenden Tabelle ist ersichtlich, dass in 55 von 67 Fällen = **82,1** % Tuberkelbazillen im untersuchten Material durch eine der drei Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden konnten. Die weitaus besten Resultate lieferte dabei der Tierversuch, der 54 mal = **80,5** % positiv ausfiel:

III. Tabelle. Tierversuch

Tierversuch	Mikr. Unt.	Kultur	Total
+	+	+	1
+	+	—	3
+	—	—	36
+	—	+	14
			54

Der hohe Prozentsatz von Versagern beim Tierversuch (19,5 %) scheint im Gegensatz zu den Ergebnissen verschiedener Autoren zu stehen. So hatten z. B.:

Knorr und Friedrich	4,5 % Versager	bei 150 Tierversuchen
Clairmont	5 % Versager	bei 278 Tierversuchen
Dimtza	6 % Versager	bei 76 Tierversuchen

Dabei darf aber nicht übersehen werden, dass bei vielen Autoren sich der hohe Prozentsatz positiver Tierversuche dadurch erklären lässt, dass ihren Berechnungen nicht die Zahl der untersuchten Fälle, sondern die Zahl der positiven Bazillenbefunde zugrunde liegt. Nach dieser Berechnungsart erhalten wir 98,2 % positive Tierversuche, nämlich 54 positive Tierversuche bei 55 positiven Bazillenbefunden.

Ebenso können die Resultate durch die Verschiedenheit des Untersuchungsmaterials beeinflusst werden. Unser Material betrifft, abgesehen von zwei Gewebsstücken, nur Eiter und Punktate, während bei anderen Autoren auch Sputum-, Urin- und Stuhluntersuchungen als Grundlage der Berechnungen dienen. Im Eiter, der ein Zerfallsprodukt des tuberkulösen Herdes darstellt, dürfen wir Tuberkelbazillen erwarten. Diese können jedoch durch fermentative Kräfte in ihrer Virulenz sehr geschwächt oder sogar

abgetötet sein, sodass der Tierversuch wie auch das Kulturverfahren negativ bleiben können.

Der Gelenkerguss ist nicht Sitz der Krankheit. Er stellt, wenigstens im Frühstadium, nur das Sekretionsprodukt der gereizten Synovia dar, somit darf man nicht damit rechnen, dass im Punktat immer Tuberkelbazillen zu finden sind. Sind sie jedoch vorhanden, wenn auch in so geringer Zahl, dass sie dem mikroskopischen Nachweis entgehen, ist damit zu rechnen, dass der Tierversuch positiv ausfällt.

Dass die Zahl unserer Versager im Tierversuch nicht abnormal ist, zeigt auch eine Arbeit aus der chirurgischen Universitätsklinik in Frankfurt (Groh, Diss. 1934). Groh gelangt in seinen Untersuchungen von Knochen-, Gelenk- und Drüsentuberkulosen zu ähnlichen Zahlen wie wir, nämlich 21,8 % Versager im Tierversuch (bezogen auf die positiven Bazillenbefunde 3,3 %).

Hohe Versagerzahlen erhielten auch:

Frederich	14,3 %	Versager	bei	35 Tierversuchen
Tschmarke	56,4 %	Versager	bei	55 Tierversuchen
Kemkes	87 %	Versager	bei	165 Tierversuchen

IV. Tabelle. Kulturverfahren

Kultur	Tierversuch	Mikr. Unt.	Total
+	−	−	0
+	+	−	14
+	−	+	0
+	+	+	1
			15

Bedeutend ungünstigere Resultate als der Tierversuch ergab das Kulturverfahren. Von den 67 Fällen waren nur 15 = 22,5 %, oder auf die Zahl der positiven Bazillenbefunde bezogen 27,3 %, in der Kultur positiv. Dieses schwache Resultat lässt sich teilweise, wie oben die Versager beim Tierversuch, erklären mit der Verschiedenheit der Berechnungsgrundlagen und der Verschiedenheit des Materials.

Nach den Erfahrungen der meisten Autoren ist das Kulturverfahren dem Tierversuch unterlegen. Knorr und Friedrich berichten, leider ohne Angabe der Gesamtzahl ihrer Untersuchungen, über 10 Fälle, bei denen die Kultur negativ, der Tierversuch jedoch positiv ausfiel. Auch Lutz erhielt entschieden bessere Resultate durch den Tierversuch.
Voegeli (Diss. Bern 1933) erhielt von 125 Untersuchungen 33 positive Ergebnisse. Davon waren 22 im Tierversuch und in der Kultur positiv, 7 Untersuchungen waren nur im Tierversuch, 4 Untersuchungen nur in der Kultur positiv.

Aehnliche Angaben macht Belart (Diss. Bern 1934). Er verwendete nur Material, bei dem die mikroskopische Untersuchung negativ ausgefallen war. 140 Untersuchungen ergaben 36 positive Resultate, davon 29 im Tierversuch und in der Kultur, 5 nur im Tierversuch, 2 nur in der Kultur.

Groh erhielt bei 43 Untersuchungen 30 positive Tierversuche, jedoch nur 16 positive Kulturen. In einem einzigen Falle war die Kultur positiv, der Tierversuch aber negativ.

Unsere Untersuchungen bestätigen die Ansicht der meisten Autoren, dass das Kulturverfahren bei seinem heutigen Stand dem Tierversuch unterlegen ist. Der Vorteil des Kulturverfahrens liegt hauptsächlich in seiner relativen Billigkeit, verglichen mit dem Tierversuch, wie auch darin, dass es im allgemeinen weniger lange dauert als der Tierversuch. Da die Möglichkeit besteht, dass ausnahmsweise die Kultur positiv, der Tierversuch jedoch negativ ausfallen kann, empfiehlt es sich, wenn immer möglich für die bakteriologische Diagnose beide Verfahren zu verwenden.

V. Tabelle. Mikroskopischer Nachweis

Mikr. Unt.	Kultur	Tierversuch	Total
+	—	—	1
+	+	—	0
+	—	+	3
+	+	+	1
			5

Die kleinste Anzahl positiver Resultate ergab die mikroskopische Untersuchung. Nur 5 von 67 Fällen, das sind 7,5 %, waren im mikroskopischen Nachweis positiv. Drei der Fälle waren auch im Tierversuch, einer im Tierversuch und in der Kultur positiv. In einem Fall war nur die mikroskopische Untersuchung positiv. Dies mag daherrühren, dass die Bazillen zu schwach waren, um in der Kultur anzugehen oder eine Erkrankung des Versuchstieres herbeizuführen.

Zusammenfassung

Die Knochen- und Gelenktuberkulose ist eine der wichtigsten chirurgischen Erkrankungen. Die Frühdiagnose ist von grosser Bedeutung, da frühzeitig einsetzende Therapie eine günstigere Prognose gibt. Denn mancher Knochenherd kann radikal und ohne Eröffnung des benachbarten Gelenks entfernt werden, bevor er um sich gegriffen hat oder ins Gelenk durchgebrochen ist. Ausserdem ist durch frühzeitige Behandlung die Entstehung von schweren Deformitäten zu verhindern, wenn auch auf den Ablauf des Krankheitsprozesses selbst nicht allzuviel Einfluss ausgeübt werden kann. Ein wichtiges Hilfsmittel zur Diagnose ist der bakteriologische Nachweis, da das Auffinden von Tuberkelbazillen die Diagnose sicherstellt, während allerdings ein negativer Ausfall der Untersuchung eine Erkrankung nicht ausschliesst.

Der bakteriologische Nachweis lässt sich durch verschiedene Methoden erbringen: die mikroskopische Untersuchung, das Kulturverfahren und den Tierversuch.

Unsere Untersuchungen betreffen 318 Fälle von Knochen- und Gelenktuberkulose. Nur in 67 dieser Fälle konnte Material für die bakteriologische Untersuchung gewonnen werden, d. h. in wenig mehr als einem Fünftel der

vorhandenen Fälle. Das Material wurde mikroskopisch, im Kulturverfahren und im Tierversuch untersucht. In 55 Fällen der 67 = 82,1 % ergaben sich positive Resultate. Der Tierversuch allein war 54 mal = 80,5 %, die Kultur 15 mal = 22,5 %, die mikroskopische Untersuchung 5 mal = 7,5 % positiv. Die Kultur war nie positiv ohne gleichzeitig positiven Tierversuch.

Als die sicherste und zuverlässigste bakteriologische Untersuchungsmethode ist somit der Tierversuch anzusehen, der den höchsten Prozentsatz positiver Resultate liefert. Es muss aber ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass **nur der positive Tierversuch Beweiskraft hat,** und dass aus einem negativen Ausfall des Tierversuches niemals eine Tuberkulose ausgeschlossen werden darf. Unter den 67 untersuchten Fällen sind **drei** (Nos. 14, 16, 50), bei welchen sämtliche **bakteriologischen Untersuchungen negativ** ausfielen, und bei welchen durch die **Autopsie** die klinische Diagnose Tuberkulose, ihre **Bestätigung** erfuhr! Immerhin rechtfertigt sich die gleichzeitige Anwendung aller drei Methoden, da auch der Tierversuch versagen oder doch sehr lange dauern kann, währenddem im allgemeinen das Kulturverfahren in kurzer Zeit und der mikroskopische Nachweis sofort ein positives Resultat ergeben können.

Quantitativ können jedoch die Resultate der bakteriologischen Untersuchung nicht befriedigen. Wenn man bedenkt, dass es in wenig mehr als einem 5tel der Fälle überhaupt möglich war, Untersuchungsmaterial zu erhalten, und dass in weniger als einem 5tel aller Fälle der bakteriologische Nachweis gelang, kommt man zum Schluss, dass weitaus wichtiger als die bakteriologische, die klinische Diagnose ist, die sich aufzubauen hat auf Anamnese, Untersuchungsbefund, klinischen Verlauf, Röntgenuntersuchung, Tebeprotinreaktion, Blutuntersuchung, etc., unter sorgfältigster Bewertung aller Symptome.

Wenn Material erhältlich ist, wird man selbstverständlich eine bakteriologische Untersuchung vornehmen, doch darf dies nicht dazu verleiten, die klinische Untersuchung zu vernachlässigen, und vorerst das Resultat der bakteriologischen Untersuchung abzuwarten.

Literaturverzeichnis

1. **Akopava,** Zur Frage des Tuberkelbazillennachweises. Zentralorgan f. d. ges. Chirurgie, 1931, S. 244.
2. **Blankoff,** Die Bedeutung des Eiters im Hinblick auf Eingriffe bei der Knochentuberkulose. Zentralblatt für Chirurgie, 1936, S. 2200.
3. **Blumenberg,** Vergleichende Untersuchungen zur Methodik der Tuberkelbazillenzüchtung. Med. Kl. 1929, S. 1136.
4. **Bacmeister,** Das Auftreten virulenter Tuberkelbazillen im Blut nach der diagnostischen Tuberkulinprobe. Münch. med. Wochenschrift 1913.
5. **Clairmont,** Die Chirurgie der Tuberkulose, Berlin 1931.
6. derselbe, Zur Diagnose der Tuberkulose, Zb. f. Chir. 1927.
7. **Dimtza,** Zur kulturellen Diagnostik der Tuberkulose, Arch. f. klin. Chir. 1928, Bd. 150.

8. derselbe, Nachweis der Tuberkulose durch die Kultur des Tuberkelbazillus. Schweiz. med. Woch. 1928.

9. **Dumont und Stockmann,** Untersuchungen über Blutbildveränderungen nach subkutaner Injektion von Tebeprotin, in Fällen von chirurgischer Tuberkulose. Sch. m. W. 1934, Nr. 8.

10. **Deutsch,** Ueber einen Fall von Geflügeltuberkulose beim Menschen. Med. Klin. 1925.

11. **Engel,** Zum kulturellen Nachweis von Tuberkelbazillen. Deutsche med. Wochenschrift 1927.

12. **Ehrlich,** Beschleunigter Nachweis von Tuberkelbazillen im Tierversuch durch Drüsenexstirpation. D. m. W. 1930.

13. **Engel-Pirquet,** Handbuch der Kindertuberkulose. Leipzig 1919.

14. **Friedrich,** Die bilogische Diagnostik der chirurgischen Tuberkulose. Arch. f. klin. Chir. 1925, Bd. 137.

15. derselbe, Ueber Fehlerquellen der exakten Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Tuberkulose und Actinomykose. 54. Tag. d. deutsch. Ges. f. Chir., S. 202.

16. **Felsenfeld,** Nachweis der Tuberkelbazillen durch Kultur und Tierversuch. Zentr. org. f. d. ges. Chir. 1936, S. 167.

17. **Freund,** Gelenkerkrankungen, 1929.

18. **Frederich,** Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis von Tuberkelbazillen durch Tierversuch und mit dem Nährboden nach Hohn. Beitr. z. Klin. der Tbc., Bd. 76.

19. **Guggenheim,** Die Linksverschiebung im weissen Blutbild bei der Tuberkulose. Beitr. z. Klin. der Tbc. 1930.

20. **Flesch-Thebesius,** Chirurgische Tuberkulose, 1933.

21. **Fliegel,** Klinik und Therapie der Knochen- und Gelenktuberkulose. 1937.

22. **Haase,** Unsere Erfahrungen mit der Hohnschen Kultur. Brun's Beitr. 1931.

23. **Heim,** Lehrbuch der Bakteriologie, 1922.

24. **Hohn,** Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. M. m. W. 1926.

25. derselbe, Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. Zentralbl. f. Bakt. 1926, Bd. 48.

26. derselbe, 4 Jahre Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. Zentr. bl. f. Bakt. 1929, Bd. 113.

27. **Husted,** Resultate der Untersuchung auf Tuberkelbazillen in Eiter. Zbl. f. Chir. 1936, S. 910.

28. **Johansson,** Knochen- und Gelenktuberkulose im Kindesalter. Jena 1926.

54. **Schäffer,** Verhalten der Senkungsreaktion bei Knochen- und Gelenktuberkulose. Med. Klin. 1936.

29. **Ivanova,** Zur Frage des Tuberkelbazillenbefundes in Eiter bei chirurgischer Tuberkulose. Zbl. ges. Chir. 1931.

30. **Kremer und Wiese,** Die Tuberkulose der Knochen und Gelenke. Berlin 1930.

31. **König,** Spezielle Tuberkulose der Knochen und Gelenke. Berlin 1902.

32. **Knorr,** Verfolgung des Heilverlaufs bei Knochen- und Gelenktuberkulose mit der Blutkörperchensenkungsprobe. D. Zeitschr. f. Chir. 1927, Bd. 203.

33. **Knorr und Friedrich,** Der Tierversuch bei chirurgischer Tuberkulose. Beitr. z. klin. Tbc. 1928, Bd. 69.

34. dieselben, Der Nachweis von Tuberkelbazillen bei chirurgischer Tuberkulose. M. m. W. 1930.

35. **Löwenstein,** Ueber das Vorkommen von Geflügeltuberkulose beim Menschen. Wiener klin. Wochenschr. 1913.

36. derselbe, Das Krankheitsbild der Geflügeltuberkulose beim Menschen. Med. Klin. 1928.

37. derselbe, Die Methodik der Reinkultur von Tuberkelbazillen aus dem Blute. D. m. W. 1930.

38. derselbe, Die klinische Bedeutung der Tuberkelbazillämie. M. m. W. 1930.

39. derselbe, Beitrag zur Unterscheidung der offenen und geschlossenen Tuberkulose. W. klin. W. 1927, S. 155.

40. **Löwy,** Zur Vereinfachung des kulturellen Nachweises der Tuberkelbazillen nach Hohn. M. m. W. 1928.

41. **Lutz,** Tierversuch oder Kultur zum Nachweis der Tuberkulose? Zbl. f. Bakt. 1929.

42. **Lexer,** Allgemeine Chirurgie. 1914.

43. **Lincevskja,** Die Bakteriologie der tuberkulösen Exsudate. Zentr. Org. f. Chir. 1934.

44. **Lombard und Thiodat,** Diagnose kalter Abszesse durch das Kulturverfahren von Loewenstein. Zentr. Org. f. Chir. 1934.

45. **Matti,** Die Behandlung der chirurgischen Tuberkulose. Schweiz. med. Woch. 1929, No. 8.

46. **Miller,** A guinea pig rapid method for diagnosis of tuberculosis. Zbl. f. Chir. 1923.

47. **Oehlecker,** Tuberkulose der Knochen und Gelenke. 1924.

48. derselbe, Perlsucht und Skelettuberkulose. Bruns. Beitr. z. Chir. 1935.

49. **Popper, Bodart und Schindler,** Zur Tuberkelbazillenzüchtung aus dem Leichenblute. Virchows Arch. f. Path. Anat. 1932.

50. **Pesch-Simchowitz,** Züchtung von Tuberkelbazillen. M. m. W. 1925.

51. **Pitzen,** Diagnose der beginnenden Knochen- und Gelenktuberkulose. München 1929.

52. **Schattner,** Beitrag zur Reinzüchtung von Tuberkelbazillen. W. klin. Woch. 1925, S. 1035.

53. **Schrader,** Züchtung des Tuberkelbazillus nach Hohn. Zbl. f. Chir. 1927, S. 2042.

55. **Sütterlin,** Die Züchtung des Tuberkelbazillus nach Hohn. M. m. W. 1927, S. 1180.

56. **Sonnenschein,** Ergebnisse der Tuberkelbazillenzüchtung nach Hohn. Zeit. f. Tbc. 1928, Bd. 50.

57. derselbe, Erfahrungen mit der neuen Kulturmethode des Tuberkelbazillennachweises. Zbl. f. Chir. 1927.

58. **Sumiyoshi,** Beiträge zur Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Sputum. Zeitsch. f. Tbc. 1924.

59. **Tschmarke,** Bemerkungen zur kulturellen Diagnostik der chirurgischen Tuberkulose. Arch. f. kl. Chir. 1930.

60. **Toenissen,** Tebeprotin in der Diagnostik und Therapie der Tuberkulose. Fortschr. d. Ther. 1925.

61. **Vogel,** Ueber Gelenktuberkulose. Dtsch. Ztsch. f. Ch. 1909.

62. **Belart,** Der Hohnsche Z-Nährboden zum Nachweis von Tuberkelbazillen. Diss. Bern 1934.

63. **Burckhardt,** Typus bovinus und Typus humanus bei der chirurgischen Tuberkulose. Zbl. f. Bakt. 1911.

64. **Bürki,** Ueber den Nachweis von Tuberkelbazillen im strömenden Blut. Diss. Bern 1935.

65. **Gfeller,** Erfahrungen mit dem Malachitgrün-Eiernährboden zur Züchtung von Tuberkelbazillen. Diss. Bern 1934.

66. **Groh,** Die Bedeutung des Tierversuchs als diagnostisches Hilfsmittel der Knochen-, Gelenk- und Drüsentuberkulose. Diss. Frankfurt 1934.

67. **Voegeli,** Der Nachweis von Tuberkelbazillen durch Kultur und Tierversuch. Diss. Bern 1933.

68. **Mündel und Strempel,** Der bovine und der humane Typus der Tuberkelbazillen bei menschlicher Tuberkulose. Berlin, 1935.

69. **Strempel,** Ueber die Tuberkulose der weissen Maus. Zeitschr. f. Tbc. 1934.

70. **Calvé, Jacques,** La tuberculose ostéo-articulaire. Masson et Cie. Paris 1935.